

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
18 juillet 2002 (18.07.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 02/055515 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :  
**C07D 401/12**, 401/14,  
453/02, A61K 31/53 // (C07D 401/12, 251:00, 215:00)  
(C07D 401/14, 251:00, 215:00, 213:00)

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR02/00057

(22) Date de dépôt international : 9 janvier 2002 (09.01.2002)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
01/00205 9 janvier 2001 (09.01.2001) FR

(71) Déposant : AVENTIS PHARMA S.A. [FR/FR]; 20 avenue Raymond Aron, F-92160 Antony (FR).

(72) Inventeurs: MAILLIET, Patrick; 87 rue Dalayrac, F-94120 Fontenay Sous Bois (FR). RIOU, Jean-François; 2 rue Chabaud, F-51100 Reims (FR). ALASIA, Marcel; Résidence Les Pages, 40 rue Auguste Blanqui, F-94600 Choisy Le Roi (FR). CAULFIELD, Thomas; 7 rue Raffet, F-75016 Paris (FR). DOERFLINGER, Gilles; Résidence Les Millepertuis, Bât. B3, F-91940 Les Ulis (FR). MERGNY, Jean-Louis; 25 rue Delescluze, F-94800 Villejuif (FR). LAOUI, Abdelazize; 876 Sunset Ridge Road, Bridgewater, NJ 08807 (US). PETITGENET, Odile; 31 rue du Moulin Vert, F-75014 Paris (FR). RE-NOU, Emmanuelle; 19 rue de Reuilly, F-75012 Paris (FR).

(74) Mandataire : LE PENNEC, Magali; Aventis Pharma S.A., Direction Brevets, 20 avenue Raymond Aron, F-92165 Antony Cedex (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publiée :**

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: CHEMICAL DERIVATIVES AND THEIR USE AS ANTI-TELOMERASE AGENT

(54) Titre : DERIVES CHIMIQUES ET LEUR APPLICATION COMME AGENT ANTITELOMERASE

(57) Abstract: The invention relates to cancer therapy and concerns novel anti-cancer agents having a very particular action mechanism. The invention also concerns novel chemical compounds and their therapeutic use in humans.

(57) Abrégé : La présente invention est relative à la thérapie du cancer et concerne de nouveaux agents anticancéreux ayant un mécanisme d'action bien particulier. Elle concerne aussi de nouveaux composés chimiques ainsi que leur application thérapeutique chez l'homme.



WO 02/055515 A1

DERIVES CHIMIQUES ET LEUR APPLICATION COMME AGENT  
ANTITELOMERASE

La présente invention est relative à la thérapie du cancer et concerne de nouveaux agents anticancéreux ayant un mécanisme d'action bien particulier. Elle concerne aussi de nouveaux composés chimiques ainsi que  
5 leur application thérapeutique chez l'homme.

La présente invention concerne l'utilisation de nouveaux composés chimiques non nucléotidiques qui interagissent avec des structures spécifiques de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ces nouveaux composés  
10 sont constitués d'un agent répartiteur lié à un groupe aminoaromatique. Ces nouveaux composés sont utiles dans le traitement des cancers et agissent en particulier en tant qu'agents inhibiteurs de la télomérase. Ils sont particulièrement utiles pour stabiliser l'ADN en structure G-quadruplexe (tétrades de guanines). L'application thérapeutique de l'inhibition de la  
15 télomérase via la stabilisation de ces G-quadruplexes est l'arrêt de la mitose cellulaire et la mort des cellules à division rapide telles que les cellules cancéreuses et éventuellement l'induction de la sénescence des cellules cancéreuses.

Les composés de la présente invention présentent l'avantage du point de vue thérapeutique de bloquer la télomérase. Du point de vue  
20 biologique, la télomérase permet l'ajout de séquences d'ADN répétées du type T T A G G G, dites séquences télomériques, à l'extrémité du télomère, lors de la division cellulaire. Par cette action la télomérase rend la cellule immortelle. En effet, en l'absence de cette activité enzymatique, la cellule  
25 perd à chaque division 100 à 150 bases, ce qui la rend rapidement senescente. Lors de l'apparition de cellules cancéreuses à division rapide, il est apparu que ces cellules présentaient des télomères maintenus à une longueur stable au cours de la division cellulaire. Dans ces cellules cancéreuses il est apparu que la télomérase était fortement activée et qu'elle  
30 permettait l'addition de motifs répétés de séquences télomériques à la fin du télomère et permettait donc la conservation de la longueur du télomère dans les cellules cancéreuses. Il est apparu depuis quelques temps que plus de 85 % des cellules cancéreuses présentaient des tests positifs à la présence

de télomérase alors que les cellules somatiques ne présentent pas cette caractéristique.

Ainsi la télomérase est une cible très convoitée pour traiter les cellules cancéreuses. La première approche évidente pour bloquer la télomérase a été l'utilisation de structures nucléotidiques (Chen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(7), 2635-2639). Parmi les composés non nucléotidiques qui ont été utilisées dans l'art antérieur on peut citer les diaminoanthraquinones (Sun et al. J. Med. Chem. 40(14), 2113-6) ou les diethyloxadicarbocyanines (Wheelhouse R. T. Et al. J. Am. Chem. Soc. 1998(120) 3261-2).

Le brevet WO 99/40087 décrit l'utilisation de composés qui interagissent avec les structures G-quadruplexes qui sont des composés pérylènes et des carbocyanines contenant au moins sept cycles dont deux hétérocycles.

Il est apparu de façon tout-à-fait surprenante que des structures simples permettaient d'obtenir un résultat au moins équivalent avec des structures beaucoup moins compliquées du point de vue chimique. Les composés de la présente invention qui répondent à l'objectif visé c'est-à-dire qui fixent la structure G-quadruplex et par ce fait présentent une activité inhibitrice des télomérases répondent à la formule générale suivante :

cycle aromatique azoté -  $\text{NR}_3$  - répartiteur -  $\text{NR}'_3$  - chaîne hydrocarbonée non aromatique

dans laquelle

- le cycle aromatique azoté, représente :
  - une quinoléine éventuellement substituée par au moins
    - un groupe  $\text{N}(\text{Ra})(\text{Rb})$  dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
    - un groupe  $\text{ORa}$  dans lequel Ra est défini comme précédemment
    - une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou

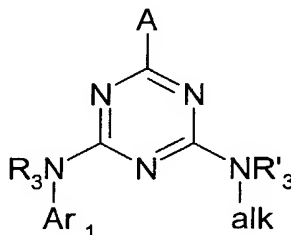
- une benzamidine ou
  - une pyridine
  - R<sup>3</sup> et R'<sup>3</sup>, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4
  - le répartiteur représente :
    - ◇ un groupe triazine éventuellement substitué par un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, un radical thio, oxy ou amino eux mêmes éventuellement substitués par une ou plusieurs chaînes alkyle à chaîne courte contenant 1 à 4 atomes de carbone ou encore un atome d'halogène ou
    - ◇ un groupe carbonyle ou
    - ◇ un groupe C(=NH)-NH-C(=NH) ou
    - ◇ un groupe alkylédiyle contenant 3 à 7 atomes de carbone ou
    - ◇ un groupe diazine éventuellement substitué par les mêmes groupes que la triazine
- ou un de ses sels.
- On entend au sens de la formule ci-dessus par chaîne hydrocarbonée non aromatique une chaîne alkyle (C1-C4), alkényle (C2-C4), linéaire ou ramifiée, cycloalkyle (C3-C18), cycloalkényle (C3-C18), hétérocycloalkyle (C3-C18). Le groupe hétérocycloalkyle inclut éventuellement l'atome d'azote.
- Il est évidemment entendu que la chaîne hydrocarbonée non aromatique peut être éventuellement substituée par un ou plusieurs atomes ou radicaux choisis parmi les atomes d'halogène, les radicaux hydroxy, aryle, hétéroaryle, alkyloxy, aryloxy, thio, alkylthio, arylthio, amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino, diarylamino, amidino, guanidino, alkylcarbonylamino, ou arylcarbonylamino, carboxyle, alkyloxycarbonyle ou aryloxycarbonyle, aminocarbonyle, alkylaminocarbonyle et/ou arylaminocarbonyle,

dialkylaminocarbonyle, alkylcarbonyl ou arylcarbonyl, cyano et trifluorométhyle.

Les chaînes alkyle des substituants éventuels de la chaîne hydrocarbonée contiennent de préférence 1 à 4 atomes de carbone et les groupes aryles des substituants éventuels de la chaîne hydrocarbonée contiennent de préférence 5 à 18 atomes de carbone.

On préfère parmi l'ensemble des composés ci-dessus inclus utiliser ceux comportant comme répartiteur un groupe triazine ou diazine. Parmi les groupes diazines on préfère utiliser les pyrimidines ou les quinazolines. Parmi les chaînes hydrocarbonée on préfère les chaînes alkyle contenant 2 à 3 atomes de carbone, les chaînes hétérocycloalkyles ou cycloalkyles contenant 4 à 7 atomes de carbone.

Parmi les triazines on préfère les composés répondant à la formule (I) ci-dessous :



dans laquelle :

- A représente

- un groupe amino de formule  $NR_1R_2$  dans lequel  $R_1$  et  $R_2$  identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

- un groupe  $OR_1$  ou  $SR_1$  dans lequel  $R_1$  a la même signification que précédemment ou

- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou ou un groupe trifluorométhyle ou

- un atome d'hydrogène ou

- un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode

- R3 et R'3, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4.

- Ar<sub>1</sub> représente :

- le cycle aromatique azoté, représente :

- 5
  - une quinoléine éventuellement substituée par au moins
    - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
  - 10
    - un groupe ORa dans lequel Ra est défini comme précédemment
    - une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
    - une benzamidine ou
    - une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec
  - 15
    - un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4

- alk représente

- un motif alkyle contenant 2 à 3 atomes de carbone linéaire ou ramifié substitué par un radical amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino ou diarylamino
- 20
  - un motif alkényle contenant 2 à 3 atomes de carbone, substitué par un radical amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino ou diarylamino
  - un motif hétérocyclyle contenant de 4 à 7 atomes de
- 25
  - carbone

ou un de ses sels.

Il est évident que les motifs quinoléines peuvent être substitués par tout autre groupe n'intervenant pas dans l'application visée, ainsi des groupes acridines ou isoquinoléines ou quinazolines ou quinoxalines ou

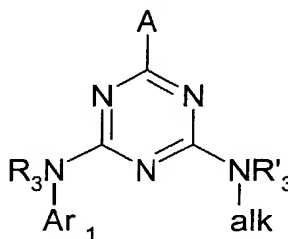
phtalazines ou benzothiazines ou benzoxazines ou phénoxazines ou phénothiazines sont inclus dans la définition des groupes quinoléines.

On préfère parmi les composés de formule (I) ci-dessus ceux qui comportent un hétérocycle choisi parmi les groupes 4-aminoquinolyl, 4-alkyl-  
5 ou 4-dialkylamino-quinolyl, 4-aminoquinolinium ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

En ce qui concerne les groupes A, ils représentent de préférence le radical méthylthio, amino, alkylamino ou dialkylamino radicaux dans lesquels les groupes alkyle possèdent 1 à 4 atomes de carbone.

10 En ce qui concerne la chaîne hydrocarbonée non aromatique, elle représente de préférence une chaîne 2-(dialkylamino)éthyl, 3-(dialkylamino)propyl, 2-(N-alkyl-N-arylamino)éthyl ou 3-(N-alkyl-N-arylamino)propyl dans lesquels les groupes alkyle contiennent de préférence  
15 1 à 4 atomes de carbone, encore plus préférentiellement 1 à 2 atomes de carbone et les groupes aryle contiennent de préférence 5 à 18 atomes de carbone, encore plus préférentiellement 6 atomes de carbone.

Un autre objet de la présente invention concerne les composés de formule (I) en tant que produits chimiques nouveaux. Il concerne donc les produits nouveaux répondant à la formule (I) suivante :



20

dans laquelle :

- A représente

• un groupe amino de formule  $NR_1R_2$  dans lequel  $R_1$  et  $R_2$  identiques ou différents représentent un groupe alkyle droit ou  
25 ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou

• un groupe  $OR_1$  ou  $SR_1$  dans lequel  $R_1$  représente l'hydrogène ou a la même signification que précédemment ou

- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un groupe trifluorométhyle ou
  - un atome d'hydrogène ou
  - un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode
- 5
- $R_3$  et  $R'_3$ , identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C1-C4
- $Ar_1$  représente :
- le cycle aromatique azoté, représente :
    - 10      ○ une quinoléine éventuellement substituée par au moins
      - un groupe  $N(Ra)(Rb)$  dans lequel  $Ra$  et  $Rb$ , identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
      - un groupe  $ORa$  dans lequel  $Ra$  est défini comme
    - 15      ○ un groupe  $ORa$  dans lequel  $Ra$  est défini comme précédemment
    - une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
    - une benzamidine ou
    - une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec
    - 20      un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4
- alk représente
- un motif alkyle contenant 2 à 3 atomes de carbone linéaire ou ramifié substitué par un radical amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino, ou diarylamino
  - 25      ○ un motif alkényle contenant 2 à 3 atomes de carbone, substitué par un radical amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino ou diarylamino
  - un motif hétérocyclyle contenant de 5 à 7 atomes de
  - 30      carbone

ou un de ses sels.

Les composés de formule (I) qui sont préférés sont ceux pour lesquels  $Ar_1$  représente un groupe choisi parmi les motifs suivants : 4-amino- ou 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino-quinolyl ou quinolynium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

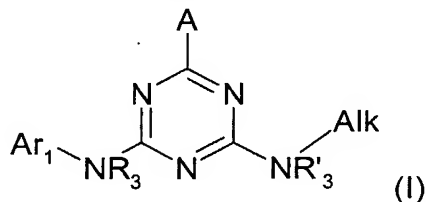
Les composés de formule générale (I) qui sont préférés sont ceux pour lesquels A représente un groupe amino ou diméthylamino ou plus préférentiellement méthylthio.

Les composés de formule générale (I) qui sont préférés sont ceux pour lesquels la chaîne hydrocarbonée non aromatique représente une chaîne 2-(dialkylamino)éthyl, 3-(dialkylamino)propyl, 2-(N-alkyl-N-arylamino)éthyl ou 3-(N-alkyl-N-arylamino)propyl dans lesquels les groupes alkyle contiennent 1 à 4 atomes de carbone, notamment 1 à 2 atomes de carbone et les groupes aryle contiennent 5 à 18 atomes de carbone, notamment 6 atomes de carbone.

On préfère tout particulièrement les composés de formule générale (I) pour lesquels la chaîne hydrocarbonée non aromatique représente une chaîne 2-(N-alkyl-N-arylamino)éthyl telle que la chaîne 2-(N-m.tolyl-N-éthyl-amino)éthyl

Un autre objet de la présente invention concerne l'utilisation des composés de la formule (I) comme produit pharmaceutique à usage humain.

Les procédés de préparation des composés de formule (I)



sont décrits ci-après.

Dans le cas où  $Ar_1$  et Alk sont présents, la triazine de formule générale (A) peut être obtenue par déplacement séquentiel des atomes d'halogène, très généralement des atomes de chlore, des produits de formule générale (B) par les amines  $Ar_1$  puis Alk de formule générale (C) selon le

schéma 1 :

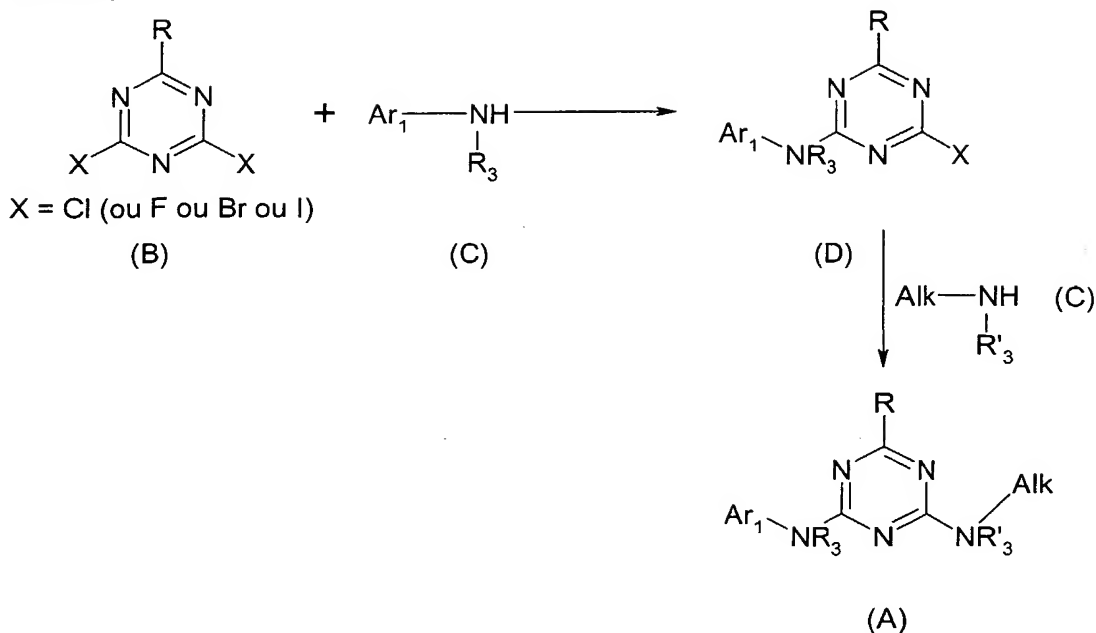


Schéma 1

Généralement on opère avec 1 mole de dihalogéno-s-triazine, ou trihalogéno-s-triazine, et 1 mole d'amine  $Ar_1$ . On préfère opérer dans un solvant inerte tel que l'acétone éventuellement aqueux ou un alcool éventuellement aqueux, comme l'éthanol, ou un solvant halogéné, tel que le dichlorométhane, ou un éther tel que l'oxyde de diéthyle ou le dioxane, ou un solvant aprotique polaire tel que le DMF le DMSO ou la NMP. Selon une meilleure manière de mettre en oeuvre l'invention on opère à une température comprise entre 20°C et 50°C. Ensuite on ajoute 1 mole d'amine Alk au produit de formule générale (D), qui peut être éventuellement isolé. On opère notamment à une température comprise entre 50°C et le reflux.

Avantageusement, on peut opérer dans les conditions décrites dans J. Fluor. Chem., 1988, 39(1), 117-123.

#### Méthode générale 2

Selon une seconde méthode les produits de formule générale (A) dans lesquels Ar sont définis tels que précédemment et R représente un groupe  $NR_1R_2$  ou  $OR_1$  ou  $SR_1$  peuvent être également préparés par déplacement nucléophile d'un atome d'halogène, généralement un atome de

chlore, d'un produit de formule générale (A) dans lequel R représente un atome d'halogène selon le schéma 2 :

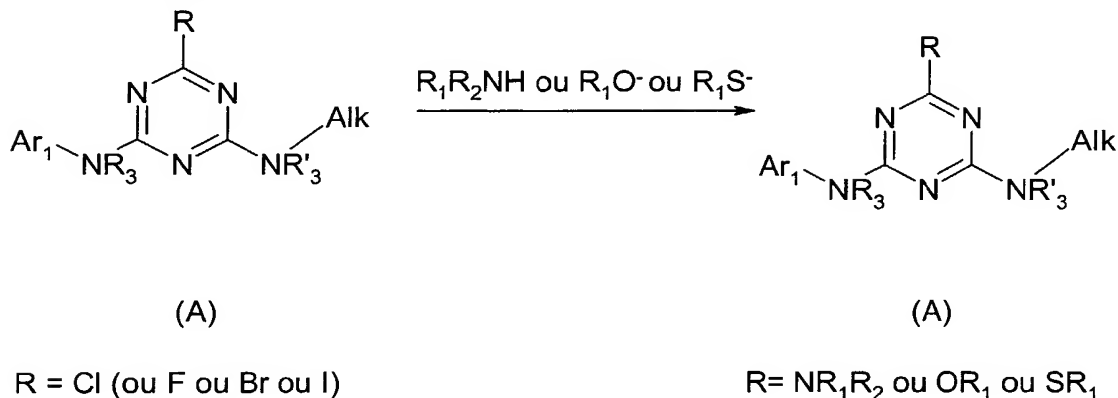


Schéma 2

- 5 On opère généralement en condensant 1 mole de produit de formule générale (A) dans lequel R représente un atome d'halogène, préférentiellement un atome de chlore, avec 1 mole d'amine R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>NH ou d'alcoolate R<sub>1</sub>O<sup>-</sup> ou de thioalcoolate R<sub>1</sub>S<sup>-</sup>. La réaction a lieu en milieu inerte dans les conditions de la réaction. On peut citer parmi les solvants inertes
- 10 l'acétone éventuellement aqueux ou un alcool éventuellement aqueux comme l'éthanol, ou un solvant halogéné tel que le dichlorométhane, ou un éther tel que l'oxyde de diéthyle ou le dioxane, ou un solvant aprotique polaire tel que le DMF le DMSO ou la NMP. Lorsque le groupe entrant représente un groupe R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>NH, on opère de préférence à une température
- 15 comprise entre 20°C et le reflux, en présence notamment d'une base organique, telle que la triéthylamine, ou minérale, telle que la soude ou le carbonate de sodium ou de potassium. Il est également possible de ne pas utiliser de base lors de la réaction d'amination, et d'isoler un chlorhydrate du produit de formule générale (A), dont la base peut ensuite être libérée.
- 20 Lorsque le groupe entrant représente un groupe R<sub>1</sub>O<sup>-</sup> ou R<sub>1</sub>S<sup>-</sup> on opère préférentiellement avec un alcoolate ou un thioalcoolate alcalin ou alcalinoterreux, tel qu'un sel de sodium ou de potassium ou de lithium ou d'ammonium ou de césium ou de baryum, dans un solvant aprotique polaire tel que le DMF ou le DMSO ou la NMP, à une température comprise entre
- 25 50°C et le reflux.

### Méthode générale 3

Selon un troisième procédé de préparation les composés pour lesquels R représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle, droit ou ramifié contenant de 1 à 4 atomes de carbone, peuvent également être préparés par condensation d'un bisguanide de formule générale (E), avec un dérivé d'acide, préférentiellement un chlorure d'acide ou un ester de méthyle de formule générale (F) selon le schéma 3 :

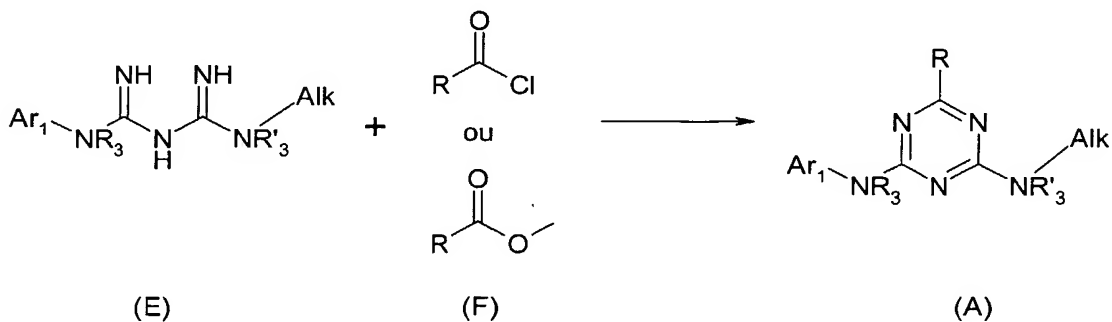


Schéma 3

La condensation entre le bisguanide de formule générale (E) et le dérivé d'acide de formule générale (F) est effectuée généralement dans un alcool comme le méthanol ou l'éthanol. On préfère opérer à une température comprise entre 0°C et la température de reflux.

Les bisguanides de formule générale (E) symétriques ou dissymétriques peuvent être obtenus en opérant dans les conditions décrites dans la littérature et en particulier selon le brevet J.P. 94-4993.

### Méthode générale 4

Il est entendu que les s-triazines de formule générale peuvent être obtenues sous forme de librairies, en appliquant les méthodes décrites dans les schémas 1, 2, 3 en chimie parallèle et/ou combinatoire en phase liquide ou en phase solide, étant entendu que, lorsqu'on travaille en phase solide, l'un quelconque des réactifs est préalablement fixé sur un support solide, choisi en fonction de la réaction chimique mise en jeu, et que ladite réaction chimique est suivie d'une opération de clivage du produit de la réaction du support solide.

La présente invention concerne aussi les compositions thérapeutiques contenant un composé selon l'invention, en association avec un support pharmaceutiquement acceptable selon le mode d'administration choisi. La composition pharmaceutique peut se présenter sous forme solide,  
5 liquide ou de liposomes.

Parmi les compositions solides on peut citer les poudres, les gélules, les comprimés. Parmi les formes orales on peut aussi inclure les formes solides protégées vis-à-vis du milieu acide de l'estomac. Les supports utilisés pour les formes solides sont constitués notamment de supports minéraux  
10 comme les phosphates, les carbonates ou de supports organiques comme le lactose, les celluloses, l'amidon ou les polymères. Les formes liquides sont constituées de solutions de suspensions ou de dispersions. Elles contiennent comme support dispersif soit l'eau, soit un solvant organique (éthanol, NMP ou autres) ou de mélanges d'agents tensioactifs et de solvants ou d'agents  
15 complexants et de solvants.

La dose administrée des composés de l'invention sera adaptée par le praticien en fonction de la voie d'administration du patient et de l'état de ce dernier.

Les composés de la présente invention peuvent être administrés  
20 seuls ou en mélange avec d'autres anticancéreux. Parmi les associations possibles on peut citer

- les agents alkylants et notamment le cyclophosphamide, le melphalan, l'ifosfamide, le chlorambucil, le busulfan, le thiotepa, la prednimustine, la carmustine, la lomustine, la semustine, la  
25 steptozotocine, la decarbazine, la témozolomide, la procarbazine et l'hexaméthylmélamine

- les dérivés du platine comme notamment le cisplatine, le carboplatine ou l'oxaliplatine

- les agents antibiotiques comme notamment la  
30 bléomycine, la mitomycine, la dactinomycine,

- les agents antimicrotubules comme notamment la vinblastine, la vincristine, la vindésine, la vinorelbine, les taxoides (paclitaxel et docétaxel)

- les anthracyclines comme notamment la doxorubicine, la daunorubicine, l'idarubicine, l'épirubicine, la mitoxantrone, la losoxantrone
- les topoisomérases des groupes I et II telles que l'étoposide, le teniposide, l'amsacrine, l'irinotecan, le topotecan et le tomudex,
- les fluoropyrimidines telles que le 5-fluorouracile, l'UFT, la floxuridine,
- les analogues de cytidine telles que la 5-azacytidine, la cytarabine, la gemcitabine, la 6-mercaptopurine, la 6-thioguanine
- les analogues d'adénosine telles que la pentostatine, la cytarabine ou le phosphate de fludarabine
- le methotrexate et l'acide folinique
- les enzymes et composés divers tels que la L-asparaginase, l'hydroxyurée, l'acide trans-rétinoïque, la suramine, la dexrazoxane, l'amifostine, l'herceptin ainsi que les hormones oestrogéniques, androgéniques.

Il est également possible d'associer aux composés de la présente invention un traitement par les radiations. Ces traitements peuvent être administrés simultanément, séparément, séquentiellement. Le traitement sera adapté au malade à traiter par le praticien.

L'activité de stabilisation des G-quadruplexes peut être déterminée par une méthode utilisant la formation d'un complexe avec la fluoresceine, dont le protocole expérimental est décrit ci-après.

## 25 Oligonucléotides

Tous les oligonucléotides, modifiés ou non, ont été synthétisés par Eurogentec SA, Seraing, Belgique. L'oligonucléotide FAM + DABCYL porte la référence catalogue, OL-0371-0802. Il possède la séquence: GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG correspondant à 3.5 répétitions du motif télomérique humain (brin riche en G). La fluoresceine est attachée à l'extrémité 5', le DABCYL à l'extrémité 3', par les bras chimiques décrit par Eurogentec. La concentration des échantillons est vérifiée par

spectrophotométrie, en enregistrant le spectre d'absorbance entre 220 et 700 nm et en utilisant le coefficient d'extinction molaire fourni par le fournisseur.

#### Tampons

- 5            Toutes les expériences ont été réalisées dans un tampon cacodylate de sodium 10 mM pH 7.6 contenant 0.1 M de Chlorure de Lithium (ou de Chlorure de Sodium). L'absence de contamination fluorescente dans le tampon a été préalablement vérifiée. L'oligonucléotide fluorescent est ajouté à la concentration finale de 0.2  $\mu$ M.

#### 10           Etude de Fluorescence

- Toutes les mesures de fluorescence ont été effectuées sur un appareil Spex Fluorolog DM1B, en utilisant une largeur de raie d'excitation de 1.8 nm et une largeur de raie d'émission de 4.5 nm. Les échantillons sont placés dans une cuvette en quartz micro de 0.2 x 1 cm. La température de l'échantillon est contrôlée par un bain-marie extérieur. L'oligonucléotide seul a été analysé à 20, 30, 40, 50, 60, 70 et 80°C. Les spectres d'émission sont enregistrés en utilisant une longueur d'onde d'excitation de 470 nm. Les spectres d'excitation sont enregistrés en utilisant soit 515 nm soit 588 nm comme longueur d'onde d'émission. Les spectres sont corrigés de la réponse de l'instrument par des courbes de référence. Une extinction importante (80-90 %) de la fluorescence de la fluoresceine à température ambiante est observée, en accord avec un repli intramoléculaire de l'oligonucléotide à 20°C sous forme d'un G-quadruplex, ce qui induit une juxtaposition de ses extrémités 5' et 3', respectivement liées à la fluoresceine et au DABCYL.
- 25    Cette juxtaposition entraîne un phénomène déjà décrit d'extinction de fluorescence, utilisé pour les "Molecular Beacons".

#### T<sub>m</sub> en fluorescence :

- Une solution stock d'oligonucléotide à la concentration en brin de 0.2  $\mu$ M dans un tampon 0.1 M LiCl 10 mM cacodylate pH 7.6 est préalablement préparée, chauffée brièvement à 90°C et refroidie lentement à 20°C, puis distribuée par aliquots de 600  $\mu$ l dans les cuves de fluorescence. 3  $\mu$ l d'eau (pour le contrôle) ou 3  $\mu$ l du produit à tester (stock à 200  $\mu$ M,
- 30

concentration finale 1  $\mu$ M) sont alors ajoutés et mélangés. Les échantillons sont alors laissés à incuber pendant au moins 1 heure à 20°C avant chaque mesure. L'utilisation de temps d'incubation plus longs (jusqu'à 24 heures) n'a pas d'influence sur le résultat obtenu.

- 5            Chaque expérience ne permet que la mesure d'un seul échantillon. Celui-ci est d'abord incubé à une température initiale de 20°C, porté à 80°C en 38 minutes, laissé 5 minutes à 80°C, puis refroidi à 20°C en 62 minutes. Durant ce temps, la fluorescence est mesurée simultanément à deux longueurs d'onde d'émission (515 nm et 588 nm) en utilisant 470 nm comme  
10 longueur d'onde d'excitation. Une mesure est effectuée toutes les 30 secondes. La température du bain-marie est enregistrée en parallèle, et le profil de fluorescence en fonction de la température est reconstitué à partir de ces valeurs. Les profils de fluorescence sont ensuite normalisés entre 20°C et 80°C, et la température pour laquelle l'intensité d'émission à 515 nm  
15 est la moyenne de celles à haute et basse température est appelée T<sub>m</sub>. Dans ces conditions, le T<sub>m</sub> de l'échantillon de référence sans addition de produit est de 44°C dans un tampon Chlorure de Lithium. Cette température est portée à plus de 55°C dans un tampon Chlorure de Sodium. L'addition d'un composé stabilisant le G-quadruplex induit une augmentation du T<sub>m</sub>.  
20 Cette augmentation est jugée significative si elle est supérieure à 3°.

L'activité biologique antitélomérase est déterminée par le protocole expérimental suivant :

#### Préparation de l'extrait enrichi en activité télomérase humaine

- 25            La lignée de leucémie HL60 est obtenue auprès de l'ATCC (American Type Culture Collection, Rockville USA). Les cellules sont cultivées en suspension dans du milieu RPMI 1640 contenant, L-Glutamine à 2 mM, Penicilline 200 U/ml, streptomycine 200  $\mu$ g/ml, gentamycine 50  $\mu$ g/ml et additionné de 10 % de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur.

- 30            Une aliquote de 10<sup>5</sup> cellules est centrifugée à 3000xG et le surnageant écarté. Le culot de cellules est resuspendu par plusieurs pipettages successifs dans 200  $\mu$ l de tampon de lyse contenant CHAPS 0.5 %, Tris-HCl pH 7,5 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 1mM, EGTA 1 mM,  $\beta$ -mercaptoethanol 5 mM, PMSF 0.1 mM et glycérol 10 % et est conservé dans la glace pendant

30 minutes. Le lysat est centrifugé à 16 000xG pendant 20 minutes à 4°C et 160 µl du surnageant est récupéré. Le dosage des protéines de l'extrait est effectué par la méthode de Bradford. L'extrait est conservé à -80°C.

#### Dosage de l'activité télomérase

- 5 L'inhibition de l'activité télomérase est déterminée par un protocole d'extension de l'oligonucléotide TS (5'AATCGTTCGAGCAGAGTT<sup>3</sup>), en présence d'un extrait cellulaire enrichi en activité télomérase et des composés qui sont ajoutés à différentes concentrations (10, 1, 0.1 et 0,01 µg/ml). La réaction d'extension est suivie d'une amplification PCR des
- 10 produits d'extension à l'aide des oligonucléotides TS et CXext (5'GTGCCCTTACCCTTACCCTTACCCTAA<sup>3</sup>).

Le milieu réactionnel est préparé selon la composition suivante :

	Tris HCl pH 8,3	20 mM
	MgCl <sub>2</sub>	1,5 mM
15	Tween 20	0,005 % (P/V)
	EGTA	1 mM
	dATP	50 µM
	dGTP	50 µM
	dCTP	50 µM
20	dTTP	50 µM
	Oligonucléotide TS	2 µg/ml
	Oligonucléotide CXext	2 µg/ml
	Sérum Albumine bovine	0,1 mg/ml
	Taq DNA polymérase	1 U/ml
25	alpha 32P dCTP (3000 Ci/mme)	0.5 µl
	Extrait télomérase	200 ng sous un volume de 10 µl
	Produit à tester ou solvant	sous un volume de 5 µl
	Eau bi-distillée QS	50 µl

Les oligonucléotides sont obtenus auprès d'Eurogentec (Belgique) et sont conservés à -20°C à une concentration stock de 1 mg/ml dans de l'eau distillée.

- 5 Les échantillons réactionnels sont assemblés dans des tubes à PCR de 0.2 ml et une goutte d'huile de paraffine est déposée sur chacune des réactions de l'expérience avant la fermeture des tubes.

Les échantillons réactionnels sont ensuite incubés dans un appareil à PCR de type Cetus 4800 selon les conditions de températures suivantes :

- 10 15 minutes à 30°C,  
1 minute à 90°C,  
suivis de 30 cycles de,  
30 secondes à 94°C,  
30 secondes à 50°C,  
et 1 minute 30 secondes à 72°C,  
15 suivis d'un cycle final de 2 minutes à 72°C.

Pour chacun des échantillons, une aliquote de 10 µl est pipetée sous la couche d'huile et mélangée avec 5 µl d'un tampon de dépôt contenant :

	TBE	3X
	glycérol	32 % (P/V)
20	Bleu de bromophénol	0.03 %
	Xylène cyanol	0.03 %

Les échantillons sont ensuite analysés par électrophorèse en gel d'acrylamide 12 % dans un tampon TBE 1X pendant 1 heure sous une tension de 200 volts, à l'aide d'un système d'électrophorèse Novex.

- 25 Les gels d'acrylamides sont ensuite séchés sur une feuille de papier whatmann 3MM à 80°C pendant 1 heure.

L'analyse et la quantification des produits de la réaction sont effectuées à l'aide d'un appareil InstantImager (Pacard).

Pour chaque concentration de composé testée, les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la réaction et calculés à partir du contrôle enzymatique non traité et de l'échantillon sans enzyme (blanc) selon la formule suivante :

- 5                    (Valeur Composé - valeur blanc/ Valeur contrôle enzymatique - valeur blanc) x 100.

- 10                    La concentration de composé induisant une inhibition de 50 % de la réaction télomérase (IC50) est déterminée à l'aide d'une représentation graphique semi logarithmique des valeurs d'inhibition obtenues en fonction de chacune des concentrations de composé testée.

On considère qu'un composé est actif en tant qu'agent antitélomérase lorsque la quantité inhibant 50 % de la réaction télomérase est notamment inférieure à 5 µM.

- 15                    L'activité biologique cytotoxique sur des lignées de tumeur humaines est déterminée selon le protocole expérimental suivant :

- 20                    Les lignées de cellules humaines KB et A549 sont originaires de l'ATCC (American Type Culture Collection, Rockville USA). Les cellules A549 sont cultivées en couche en flacon de culture dans du milieu RPMI 1640, L-Glutamine à 2 mM, Penicilline 200 U/ml, streptomycine 200 µg/ml et additionné de 10 % de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur. Les cellules KB sont cultivées en couche en flacon de culture dans du milieu de Dulbelco's contenant, L-Glutamine à 2 mM, Penicilline 200 U/ml, streptomycine 200 µg/ml et additionné de 10 % de sérum fœtal de veau inactivé par la chaleur.

- 25                    Les cellules en phase exponentielles de croissances sont trypsinées, lavées dans du PBS 1X et sontensemencées en microplaques 96 puits (Costar) à raison de  $4 \times 10^4$  cellules/ml pour A549 et de  $1,5 \times 10^4$  cellules/ml (0.2 ml/puit) puis incubées pendant 96 heures en présence de concentrations variables de produit à étudier (10, 1, 0.1 et 0.01 µg/ml, chaque point en quadruplicata). 16 heures avant la fin de l'incubation, 0.02 % final de rouge neutre est ajouté dans chaque puits. A la fin de l'incubation, les cellules sont lavées par du PBS 1X et lysées par 1 % de lauryl sulfate de sodium. L'incorporation cellulaire du colorant, qui reflète la croissance cellulaire, est
- 30

évaluée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 540 nm pour chaque échantillon à l'aide d'un appareil de lecture Dynatech MR5000.

Pour chaque concentration de composé testé, les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de croissance cellulaire et calculés à partir du contrôle non traité et du milieu de culture sans cellules (blanc) selon la formule suivante :

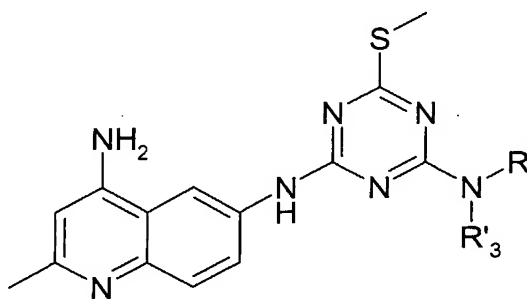
$$\left( \frac{\text{Valeur Composé} - \text{valeur blanc}}{\text{Valeur contrôle cellules} - \text{valeur blanc}} \right) \times 100.$$

La concentration de composé induisant une inhibition de 50 % de la croissance (IC<sub>50</sub>) est déterminée à l'aide d'une représentation graphique semi logarithmique des valeurs d'inhibition obtenues en fonction de chacune des concentrations de composé testée.

On considère qu'un composé est actif comme agent cytotoxique si la concentration inhibitrice de 50 % de la croissance des cellules tumorales testées est notamment inférieure à 10 µM.

Les exemples suivants et non limitatifs sont donnés pour illustrer l'invention.

**Exemple 1 :** Synthèse en parallèle de dérivés substitués de N6-[6-amino-4-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine



Préparation de la N6-(6-chloro-4-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl)-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine

Dans un tricol de 1 litre, à une solution de 5 g (25 mmoles) de 2,6-dichloro-6-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazine, qui peut être préparée selon J. Amer. Chem.

Soc., 1945, 67, 662, dans 400 ml de tétrahydrofurane, on ajoute successivement 4,4 g (25 mmoles) de 2-méthyl-quinoline-4,6-diamine, qui peut être préparée selon J. Med. Chem. 1992, 35, 252, et 2,8 g (25 mmoles) de carbonate de sodium. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 16 heures. Après évaporation du tétrahydrofurane, le résidu est repris par 400 ml d'un mélange d'eau et de dichlorométhane (50-50 en volumes). La phase organique est décantée, séchée sur sulfate de sodium et concentrée à sec sous pression réduite. On obtient alors 7,5 g (88 %) de N6-(6-chloro-4-méthylsulfanyl-triazin-2-yl)-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine, sous forme d'un solide jaune pâle dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 294°C
- spectre de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$  d6,  $\delta$  en ppm) : 2,43 (s : 3H) ; 2,52 (s : 3H) ; 6,47 (s : 1H) ; 6,61 (mf : 2H) ; 7,62 (d large, J = 9 Hz : 1H) ; 7,69 (d, J = 9 Hz : 1H) ; 8,32 (mf : 1H) ; 10,80 (mf : 1H).

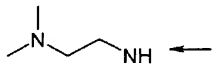
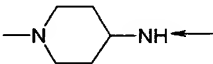
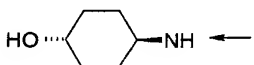
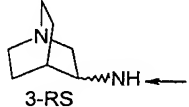
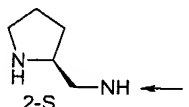
15 Synthèse en parallèle de N6-[6-(2-diméthylamino-éthylamino)-4-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine (exemple 1-1)

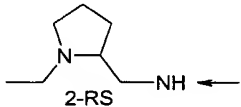
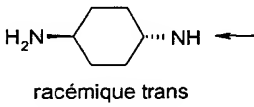
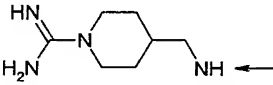
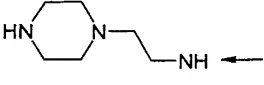
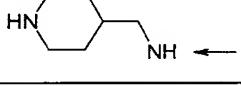
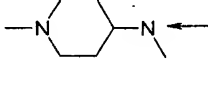
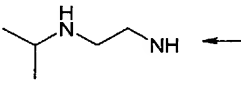
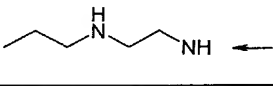
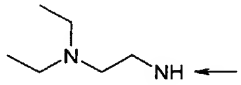
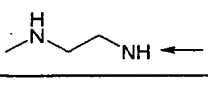
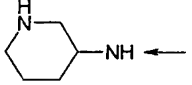
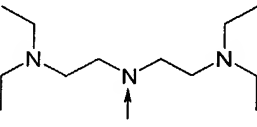
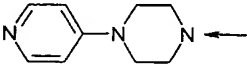
Dans un réacteur magnétique chauffant avec condenseur Zymark, de type STEM RS2050 contenant 25 puits en parallèle munis chacun d'un tube en verre de 50 ml, on introduit 50 mg (0,15 mmole) de N6-(6-amino-4-méthylsulfanyl-[1,3,5]triazin-2-yl)-2-méthylquinoline-4,6-diamine. Dans le premier tube (exemple 1-1), on ajoute successivement 5 ml de dioxane, 16 mg (0,15 mmole) de carbonate de sodium, 23 mg (0,15 mmole) d'iodure de sodium et 27 mg (0,3 mmole) de 2-diméthylamino-éthylamine. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux sous argon pendant 24 heures. Après refroidissement, le contenu du tube est évaporé sous pression réduite, repris par 5 ml d'eau et 5 ml d'acétate d'éthyle et filtré. La phase organique est décantée, séchée et concentrée sous pression réduite. Le produit brut obtenu est alors purifié par LC/MS en utilisant une colonne de silice C18 Waters Xterra 3.5  $\mu\text{M}$ , de diamètre 3 mm et de longueur 50 mm, en éluant par un gradient linéaire d'élution constitué au temps initial ( $t_0$  = 0 mn) par de l'eau contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique et au temps final ( $t_f$  = 4 mn) par de l'acétonitrile contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique. On obtient ainsi, après purification, 58 mg de trifluoroacétate de N6-[(6-(méthyl-quinolin-

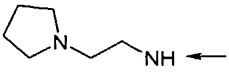
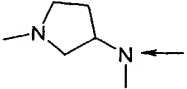
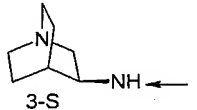
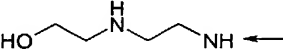
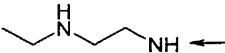
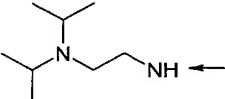
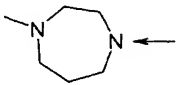
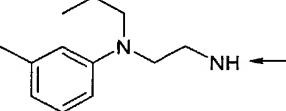
6-yl-amino)-4-méthylthio-triazin-2-yl]-quinaldine-4,6-diamine, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- spectre de masse (DAD-TIC) = 454 (MH<sup>+</sup>)
  - temps de rétention = 2,69 mn (les temps de rétention sont obtenus sur
- 5 Colonne hypersil C18 5 µm 50 mm diamètre 4.6 mm marque Purity Elite en éluant avec un mélange de solvants A (H<sub>2</sub>O/TFA 0.05 %) et B (ACN/TFA 0.05 %) avec un gradient linéaire allant de 95 % A/5 % B (t = 0 mn) à 10 % A/90 % B à t= 3,5 mn puis palier 2 mn).

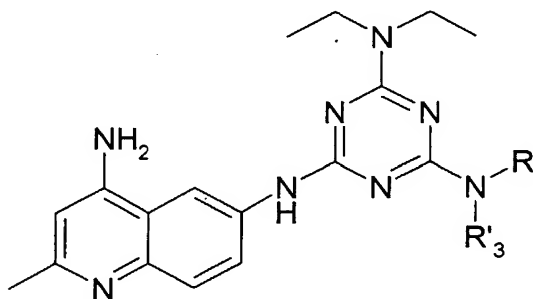
- 10 Les exemples 1-1 à 1-26 ont été obtenus en opérant comme ci-dessus dans un réacteur Zymark STEM RS2050. Les structures, les diverses conditions opératoires utilisées et les caractéristiques des exemples 1-1 à 1-26 sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Exemple	Structure	Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
		Solvant	Chauffage	Nbre de mmoles d'amine	Masse MH <sup>+</sup>	Temps de Rétention (mn)
1-1		dioxane	17 h./100°	0,3	384	2,69
1-2		dioxane	17 h./100°	0,3	410	2,91
1-3	 racémique trans	dioxane	17 h./100°	0,15	411	2,86
1-4	 3-RS	dioxane	3 j./100°	0,45	422	2,85
1-5	 2-S	dioxane	17 h./100°	0,15	396	2,84

1-6		dioxane	17 h./100°	0,15	424	2,79
1-7	 racémique trans	dioxane	17 h./100°	0,15	410	2,72
1-8		dioxane	2 j./100°	0,3	452	2,81
1-9		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	425	2,43
1-10		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	410	2,51
1-11		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	424	2,50
1-12		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	398	2,46
1-13		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	398	2,48
1-14		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	412	2,47
1-15		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	384	2,48
1-16		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	396	2,49
1-17		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	511	2,38
1-18		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	459	2,62

1-19		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	410	2,44
1-20		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	410	2,52
1-21		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	422	2,55
1-22		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	400	2,36
1-23		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	384	2,40
1-24		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	440	2,58
1-25		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	410	2,48
1-26		dioxane 10 ml/DMF 1 %	24 h./100°	0,3	474	2,86

**Exemple 2 :** Synthèse en parallèle de dérivés substitués de N6-[6-amino-4-diéthylamino-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine



Préparation de la N6-(6-chloro-4-diéthylamino-[1,3,5]triazin-2-yl)-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine

Dans un tricol de 1 litre, à une solution de 5 g (22,5 mmoles) de 2,6-dichloro-4-diéthylamino-[1,3,5]triazine commerciale dans 300 ml de tétrahydrofurane, on ajoute successivement 3,91 g (22,5 mmoles) de 2-méthyl-quinoline-4,6-diamine, qui peut être préparée selon J. Med. Chem. 1992, 35, 252, et 2,4 g (22,5 mmoles) de carbonate de sodium. Le mélange réactionnel est chauffé à reflux pendant 20 heures. Après évaporation du tétrahydrofurane, le résidu est repris par 400 ml d'un mélange d'eau et de dichlorométhane (50-50 en volumes). La phase organique est décantée, séchée sur sulfate de sodium et concentrée à sec sous pression réduite. On obtient alors 7,4 g (92 %) de N6-(6-chloro-4-diéthylamino-triazin-2-yl)-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine, sous forme d'un solide jaune dont les caractéristiques sont les suivantes :

- point de fusion = 120°C
- spectre de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$  d6,  $\delta$  en ppm) : 1,14 (mt : 6H) ; 2,42 (s : 3H) ; de 3,50 à 3,70 (mt : 4H) ; 6,47 (s et mf : 3H en totalité) ; 7,54 (d large, J = 9 Hz : 1H) ; 7,67(dd, J = 9 et 2 Hz : 1H) ; 8,27 (mf : 1H) ; 10,09 (mf : 1H).

Synthèse en parallèle de N6-[(6-(3-diméthylamino-propylamino)-4-diéthylamino-[1,3,5]triazin-2-yl)-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine  
(exemple 2-1)

Dans un réacteur magnétique chauffant avec condenseur Zymark, de type STEM RS2050 contenant 25 puits en parallèle munis chacun d'un tube en verre de 50 ml, on introduit 50 mg (0,13 mmole) de N6-(6-chloro-4-diéthylamino-[1,3,5]triazin-2-yl)-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine. Dans le premier tube (exemple 2-1), on ajoute successivement 5 ml de DMF, 19 mg (0,14 mmole) de carbonate de potassium, 21 mg (0,14 mmole) d'iodure de sodium et 14 mg (0,14 mmole) de 3-diméthylamino-propylamine. Le milieu réactionnel est chauffé à 120°C sous argon pendant 16 heures. Après refroidissement, le contenu du tube est évaporé sous pression réduite, repris par 5 ml d'eau, filtré et lavé avec de l'oxyde de diéthyle. Le produit brut obtenu est alors purifié par LC/MS en utilisant une colonne de silice C18 Waters Xterra 3.5  $\mu\text{M}$ , de diamètre 3 mm et de longueur 50 mm, en éluant

par un gradient linéaire d'élution constitué au temps initial ( $t_0 = 0$  mn) par de l'eau contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique et au temps final ( $t_f = 4$  mn) par de l'acétonitrile contenant 0,05 % d'acide trifluoroacétique. On obtient ainsi, après purification, 12 mg de N6-[(6-(3-diméthylamino-propylamino)-4-diéthylamino-[1,3,5]triazin-2-yl]-2-méthyl-quinoline-4,6-diamine, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- spectre de masse (DAD-TIC) = 423 ( $MH^+$ )
- temps de rétention = 0,79 mn (les temps de rétention sont obtenus sur Colonne hypersil C18 5  $\mu$ m 50 mm diamètre 4.6 mm marque Purity Elite en éluant avec un mélange de solvants A ( $H_2O/TFA$  0.05 %) et B ( $ACN/TFA$  0.05 %) avec un gradient linéaire allant de 95 % A/5 % B ( $t = 0$  mn) à 10 % A/90 % B à  $t = 3,5$  mn puis palier 2 mn).

Les exemples 2-1 à 2-2 ont été obtenus en opérant comme ci-dessus dans un réacteur Zymark STEM RS2050. Les structures, les diverses conditions opératoires utilisées et les caractéristiques des exemples 2-1 et 2-2 sont résumées dans le tableau ci-dessous :

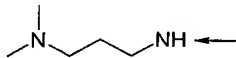
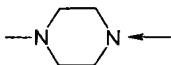
Exemple	Structure	Conditions réactionnelles			Caractéristiques	
		Solvant	Chauffage	Nbre de mmoles d'amine	Masse $MH^+$	Temps de Rétention (mn)
2-1		DMF	16 h./120°	0,14	423	0,79
2-2		DMF	16 h./120°	0,14	421	0,79

Tableau de résultats biologiques

Exemple	TRAP télomérase IC50 $\mu$ M	G-4 $\Delta T_m$ $^{\circ}$ C	Cytotoxicité A549 IC50 $\mu$ M
1-1	0,79	6	
1-2	0,5	5.6	7.5
1-3	4,4	3.1	
1-4	0,1	5.6	
1-5	1,6	2.8	
1-6	1,36		
1-7	0,47		
1-8	0,98		8.5
1-9	1,64	7	
1-10	0,94	7	
1-11	1,1	4.5	
1-12	3,1		
1-13	2,9		
1-14	3,2		
1-15	4,6		
1-16	1,29		
1-17	1,6		
1-19	1		
1-20	3,1		
1-21	0,7		
1-22	3,2		
1-23	3,8		
1-24	3,9		
1-25	1,5		10
1-26	0,86	33	< 0.3
2-1	0,90	7.9	
2-2	5,4	2.4	

## REVENDEICATIONS

1 - Composés fixant la structure G-quadruplex des télomères caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule générale suivante :

5 cycle aromatique azoté -  $\text{NR}_3$  - répartiteur -  $\text{NR}'_3$  - chaîne hydrocarbonée non aromatique

dans laquelle

- le cycle aromatique azoté, représente :

10                   ○ une quinoléine éventuellement substituée par au moins  
                           ○ un groupe  $\text{N}(\text{Ra})(\text{Rb})$  dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou

                          ○ un groupe  $\text{ORa}$  dans lequel Ra est défini comme précédemment

15                   ○ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou

                          ○ une benzamidine ou

                          ○ une pyridine

20                   •  $\text{R}_3$  et  $\text{R}'_3$ , identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4

- le répartiteur représente :

25                   ◇ un groupe triazine éventuellement substitué par un radical alkyle ayant 1 à 4 atomes de carbone, un radical thio, oxy ou amino eux même éventuellement substitués par un ou plusieurs chaînes alkyle à chaîne courte contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un atome d'halogène ou

                          ◇ un groupe carbonyle ou

                          ◇ un groupe  $\text{C}(=\text{NH})\text{-NH-C}(=\text{NH})$  ou

- ◇ un groupe alkylediyle contenant 3 à 7 atomes de carbone ou
- ◇ un groupe diazine éventuellement substitué par les mêmes groupes que la triazine

5 ou un de ses sels.

2 - Composés selon la revendication 1 caractérisés en ce que le répartiteur est choisi parmi les groupes triazine ou diazine.

3 - Composés selon la revendication 2 caractérisés en ce que les groupes diazines sont des pyrimidines ou des quinazolines.

10 4 - Composés selon l'une des revendications précédentes caractérisés en ce que la chaîne hydrocarbonée non aromatique est choisie parmi les chaîne alkyle (C1-C4), alkényle (C2-C4), linéaires ou ramifiées, cycloalkyle (C3-C18), cycloalkényle (C3-C18), hétérocycloalkyle (C3-C18) incluant éventuellement l'atome d'azote du groupe NR<sup>3</sup>.

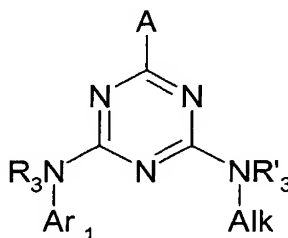
15 5 - Composés selon la revendication 4 caractérisés en ce que la chaîne hydrocarbonée non aromatique est éventuellement substituée par un ou plusieurs atomes ou radicaux choisis parmi les atomes d'halogène, les radicaux hydroxy, aryle, hétéroaryle, alkyloxy, aryloxy, thio, alkylthio, arylthio, amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino, diarylamino, amidino, 20 guanidino, alkylcarbonylamino, ou arylcarbonylamino, carboxyle, alkyloxycarbonyle ou aryloxycarbonyle, aminocarbonyle ; alkylaminocarbonyle et/ou arylaminocarbonyle, dialkylaminocarbonyle, alkylcarbonyl ou arylcarbonyl, cyano et trifluorométhyle.

25 6 - Composés selon la revendication 5 caractérisés en ce que les chaînes alkyle des substituants éventuels de la chaîne hydrocarbonée contiennent 1 à 4 atomes de carbone et les groupes aryles des substituants éventuels de la chaîne hydrocarbonée contiennent 5 à 18 atomes de carbone.

30 7 - Composés selon la revendication 4 caractérisés en ce que parmi les chaînes hydrocarbonées on préfère les chaînes alkyle contenant 2 à 3

atomes de carbone, les chaînes hétérocycloalkyles ou cycloalkyles contenant 5 à 7 atomes de carbone.

8 - Composés selon la revendication 1 caractérisés en ce qu'ils répondent à la formule (I) ci-dessous :



dans laquelle :

- A représente

- un groupe amino de formule NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> dans lequel R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou
- un groupe OR<sub>1</sub> ou SR<sub>1</sub> dans lequel R<sub>1</sub> a la même signification que précédemment ou
- un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou ou un groupe trifluorométhyle ou
- un atome d'hydrogène ou
- un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode

- R<sub>3</sub> et R'<sub>3</sub>, identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre l'hydrogène ou un groupe alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>

- Ar<sub>1</sub> représente

- le cycle aromatique azoté, représente :
  - une quinoléine éventuellement substituée par au moins
  - un groupe N(Ra)(Rb) dans lequel Ra et Rb, identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou

- un groupe ORa dans lequel Ra est défini comme précédemment
  - une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
  - 5           ○ une benzamidine ou
  - une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4
  - 10           - alk représente une chaîne hydrocarbonée, éventuellement substituée, non aromatique choisie parmi les chaîne alkyle (C1-C4), alkényle (C2-C4), linéaires ou ramifiées, cycloalkyle (C3-C18), cycloalkényle (C3-C18), hétérocycloalkyle (C3-C18) incluant éventuellement l'atome d'azote du groupe NR<sup>3</sup>
- ou un de ses sels.
- 15           9 – Composés selon la revendication 8 caractérisés en ce que la chaîne hydrocarbonée non aromatique est éventuellement substituée par un ou plusieurs atomes ou radicaux choisis parmi les atomes d'halogène, les radicaux hydroxy, aryle, hétéroaryle, alkyloxy, aryloxy, thio, alkylthio, arylthio, amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino, diarylamino, amidino,
- 20           guanidino, alkylcarbonylamino, ou arylcarbonylamino, carboxyle, alkyloxycarbonyle ou aryloxycarbonyle, aminocarbonyle ; alkylaminocarbonyle et/ou arylaminocarbonyle, dialkylaminocarbonyle, alkylcarbonyl ou arylcarbonyl, cyano et trifluorométhyle.
- 25           10 - Composés selon la revendication 8 caractérisés en ce que Ar<sub>1</sub> représente un groupe choisi parmi les groupes suivants : 4-amino- ou 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino- quinolyl ou quinolinium dont le noyau quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.
- 30           11 - Composés selon la revendication 8 caractérisé en ce que les groupes A représentent le radical thiométhyl, amino, alkylamino ou dialkylamino radicaux dans lesquels les groupes alkyle possèdent 1 à 4 atomes de carbone.

12 - Composés selon la revendication 8 caractérisés en ce que A représente un groupe méthylthio.

13 – Composés selon la revendication 8 caractérisés en ce que alk représente un motif alkyle contenant 2 à 3 atomes de carbone linéaire ou ramifié substitué par un radical amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino, diarylamino, un motif alkényle contenant 2 à 3 atomes de carbone, substitué par un radical amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino ou diarylamino, ou un motif hétérocyclyle contenant de 4 à 7 atomes de carbone

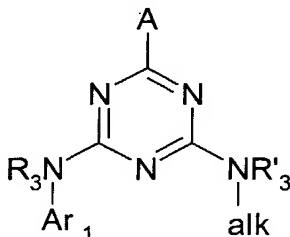
14 - Composés selon la revendication 8 caractérisés en ce que alk représente une chaîne 2-(dialkylamino)éthyl, 3-(dialkylamino)propyl, 2-(N-alkyl-N-arylamino)éthyl ou 3-(N-alkyl-N-arylamino)propyl dans lesquels les groupes alkyle contiennent 1 à 4 atomes de carbone et les groupes aryle contiennent 5 à 18 atomes de carbone.

15 - Composés selon la revendication 8 caractérisés en ce que alk représente une chaîne 2-(N-m.tolyl-N-éthyl-amino)éthyl.

16 - Composés de la revendication 1 pour une utilisation comme agent inhibiteur des télomérases.

17- Composés selon l'une quelconque des revendications précédentes pour une utilisation anticancéreuse.

18 - Composés nouveaux répondant à la formule (I) suivante :



dans laquelle :

- A représente

- un groupe amino de formule  $NR_1R_2$  dans lequel  $R_1$  et  $R_2$  identiques ou différents représentent un groupe alkyle droit ou ramifié contenant 1 à 4 atomes de carbone ou
  - 5       • un groupe  $OR_1$  ou  $SR_1$  dans lequel  $R_1$  représente l'hydrogène ou a la même signification que précédemment ou
  - un groupe alkyle contenant 1 à 4 atomes de carbone ou un groupe trifluorométhyle ou
  - un atome d'hydrogène ou
  - 10       • un atome d'halogène choisi parmi le fluor, le chlore, le brome ou l'iode
- $R_3$  et  $R'_3$ , identiques ou différents, représentent indépendamment l'un de l'autre un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C1-C4
- $Ar_1$  représente
- 15       ○ une quinoléine éventuellement substituée par au moins
    - un groupe  $N(R_a)(R_b)$  dans lequel  $R_a$  et  $R_b$ , identiques ou différents représentent l'hydrogène ou un radical alkyle en C1-C4 ou
    - un groupe  $OR_a$  dans lequel  $R_a$  est défini comme
  - 20       ○ une quinoléine possédant un atome d'azote sous forme quaternaire ou
  - une benzamidine ou
  - une pyridine attachée en position -4 ou fusionnée avec
  - 25       un groupe aryle ou hétéroaryle éventuellement substituée par un groupe alkyle en C1-C4
- alk représente une chaîne hydrocarbonée, éventuellement substituée, non aromatique, choisie parmi les chaîne alkyle (C1-C4), alkényle (C2-C4), linéaires ou ramifiées, cycloalkyle (C3-C18),

cycloalkényle (C3-C18), hétérocycloalkyle (C3-C18) incluant éventuellement l'atome d'azote du groupe NR<sup>3</sup>

ou un de ses sels.

19 – Composés selon la revendication 18 caractérisés en ce que la  
5 chaîne hydrocarbonée non aromatique est éventuellement substituée par un  
ou plusieurs atomes ou radicaux choisis parmi les atomes d'halogène, les  
radicaux hydroxy, aryle, hétéroaryle, alkyloxy, aryloxy, thio, alkylthio, arylthio,  
amino, alkylamino et/ou arylamino, dialkylamino, diarylamino, amidino,  
guanidino, alkylcarbonylamino, ou arylcarbonylamino, carboxyle,  
10 alkyloxycarbonyle ou aryloxycarbonyle, aminocarbonyle,  
alkylaminocarbonyle et/ou arylaminocarbonyle, dialkylaminocarbonyle,  
alkylcarbonyl ou arylcarbonyl, cyano et trifluorométhyle.

20 – Composés selon la revendication 18 caractérisés en ce que Ar<sub>1</sub>  
représente un groupe choisi parmi les groupes suivants : 4-amino- ou  
15 4-méthylamino- ou 4-diméthylamino-quinolyl ou quinolinium dont le noyau  
quinolinium est éventuellement substitué par un groupe méthyle.

21 – Composés selon la revendication 18 caractérisés en ce que les  
groupes A représentent le radical thiométhyl, amino, alkylamino ou  
dialkylamino radicaux dans lesquels les groupes alkyle possèdent 1 à 4  
20 atomes de carbone.

22 – Composés selon la revendication 18 caractérisés en ce que R1  
et R2 représentent l'hydrogène.

23 – Composés selon la revendication 21 caractérisés en ce que A  
représente un groupe méthylthio.

24 – Composés selon la revendication 18 caractérisés en ce que alk  
représente un motif alkyle contenant 2 à 3 atomes de carbone linéaire ou  
ramifié substitué par un radical amino, alkylamino et/ou arylamino,  
dialkylamino, diarylamino, un motif alkényle contenant 2 à 3 atomes de  
carbone, substitué par un radical amino, alkylamino et/ou arylamino,  
30 dialkylamino, diarylamino, ou un motif hétérocyclyle contenant de 4 à 7  
atomes de carbone

25 - Composés selon la revendication 18 caractérisés en ce que alk représente une chaîne 2-(dialkylamino)éthyl, 3-(dialkylamino)propyl, 2-(N-alkyl-N-arylamino)éthyl ou 3-(N-alkyl-N-arylamino)propyl dans lesquels les groupes alkyle contiennent 1 à 4 atomes de carbone et les groupes aryle contiennent 5 à 18 atomes de carbone.

26 - Composés selon la revendication 24 caractérisés en ce que alk représente une chaîne 2-(N-m.tolyl-N-éthyl-amino)éthyl.

27 - Utilisation des composés de la revendication 18 comme produit pharmaceutique à usage humain.

10 28 - Associations thérapeutiques constituées d'un composé selon la revendication 1 et d'un autre composé anticancéreux.

29 - Associations selon la revendication 28 caractérisées en ce que le composé anticancéreux est choisi parmi les agents alkylants, les dérivés du platine, les agents antibiotiques, les agents antimicrotubules, les anthracyclines, les topoisomérases des groupes I et II, les fluoropyrimidines, les analogues de cytidine, les analogues d'adénosine, les enzymes et composés divers tels que la L-asparaginase, l'hydroxyurée, l'acide trans-rétinoïque, la suramine, l'irinotecan, le topotecan, la dexrazoxane, l'amifostine, l'herceptin ainsi que les hormones oestrogéniques, androgéniques.

30 - Association thérapeutique constituée d'un composé selon la revendication 1 et de radiations.

31 - Associations selon l'une quelconque des revendications 29 à 30 caractérisées en ce que chacun des composés ou des traitements est administré simultanément, séparément ou séquentiellement.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 02/00057

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D401/12 C07D401/14 C07D453/02 A61K31/53  
 //(C07D401/12,251:00,215:00),(C07D401/14,251:00,215:00,213:00)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 93 20056 A (JARMAN MICHAEL ;COLEY HELEN MARY (GB)) 14 October 1993 (1993-10-14) the whole document ---	1-31
A	US 5 767 278 A (STRACKER ELAINE C ET AL) 16 June 1998 (1998-06-16) claims ---	1-31
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 08, 30 June 1999 (1999-06-30) & JP 11 060573 A (NIPPON KAYAKU CO LTD), 2 March 1999 (1999-03-02) abstract -----	1-31

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### ° Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \* & \* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 June 2002

Date of mailing of the international search report

03/07/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Frelon, D

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 02/00057

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9320056	A	14-10-1993	AT 168105 T	15-07-1998
			AU 676677 B2	20-03-1997
			AU 3894293 A	08-11-1993
			DE 69319590 D1	13-08-1998
			DE 69319590 T2	12-11-1998
			DK 632805 T3	19-04-1999
			EP 0632805 A1	11-01-1995
			ES 2118945 T3	01-10-1998
			WO 9320056 A1	14-10-1993
			JP 7505380 T	15-06-1995
			US 5534625 A	09-07-1996
			US 5854244 A	29-12-1998
<hr/>				
US 5767278	A	16-06-1998	NONE	
<hr/>				
JP 11060573	A	02-03-1999	NONE	
<hr/>				

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 02/00057

## A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 C07D401/12 C07D401/14 C07D453/02 A61K31/53  
 //(C07D401/12,251:00,215:00),(C07D401/14,251:00,215:00,213:00)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C07D A61K A61P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO 93 20056 A (JARMAN MICHAEL ;COLEY HELEN MARY (GB)) 14 octobre 1993 (1993-10-14) le document en entier ---	1-31
A	US 5 767 278 A (STRACKER ELAINE C ET AL) 16 juin 1998 (1998-06-16) revendications ---	1-31
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 08, 30 juin 1999 (1999-06-30) & JP 11 060573 A (NIPPON KAYAKU CO LTD), 2 mars 1999 (1999-03-02) abrégé -----	1-31

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

26 juin 2002

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

03/07/2002

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Frelon, D

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 02/00057

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9320056	A	14-10-1993	AT 168105 T	15-07-1998
			AU 676677 B2	20-03-1997
			AU 3894293 A	08-11-1993
			DE 69319590 D1	13-08-1998
			DE 69319590 T2	12-11-1998
			DK 632805 T3	19-04-1999
			EP 0632805 A1	11-01-1995
			ES 2118945 T3	01-10-1998
			WO 9320056 A1	14-10-1993
			JP 7505380 T	15-06-1995
			US 5534625 A	09-07-1996
			US 5854244 A	29-12-1998
<hr/>				
US 5767278	A	16-06-1998	AUCUN	
<hr/>				
JP 11060573	A	02-03-1999	AUCUN	
<hr/>				